

辣椒核质互作雄性不育系与保持系呼吸速率研究*

邓明华^{1,2}, 文锦芬³, 邹学校^{2**}, 何长征², 刘志敏², 周群初²

(1. 云南农业大学 园林园艺学院, 云南 昆明 650201;

2. 湖南省农业科学院 国家辣椒新品种技术研究推广中心, 湖南 长沙 410125;

3. 昆明理工大学 现代农业工程学院, 云南 昆明 650224)

摘要:以辣椒核质互作雄性不育系 9704A, 8214A 和它们相应的保持系 9704B, 8214B 为材料, 研究了叶片和不同发育阶段花蕾的总呼吸速率 (Vt)、抗氰呼吸速率 (Valt) 和抗氰呼吸速率所占总呼吸速率的比例 (Valt/Vt) 的变化趋势。结果表明: 在不育系中, 随着花蕾的发育, 总呼吸速率 (Vt)、抗氰呼吸速率 (Valt) 和抗氰呼吸速率所占总呼吸速率的比例 (Valt/Vt) 呈下降趋势; 而在保持系中总呼吸速率 (Vt) 变化趋势不明显, 抗氰呼吸速率 (Valt) 和抗氰呼吸速率所占总呼吸速率的比例 (Valt/Vt) 呈上升趋势; 在叶片中, 不育系的总呼吸速率 (Vt)、抗氰呼吸速率 (Valt) 和抗氰呼吸速率所占总呼吸速率的比例 (Valt/Vt) 均小于保持系。

关键词: 总呼吸速率; 抗氰呼吸速率; 抗氰呼吸所占总呼吸的比例; 核质互作雄性不育; 辣椒

中图分类号: S 641.3.032 **文献标识码:** A **文章编号:** 1004-390X (2009) 01-0022-04

A Study on Respiration Rates in Cytoplasmic Male-sterile Lines and their Maintainer Lines of *Capsicum annuum* L.

DENG Ming-hua^{1,2}, WEN Jin-fen³, ZOU Xue-xiao²,
HE Chang-zheng², LIU Zhi-min², ZHOU Qun-chu²

(1. College of Horticulture and Landscape, Yunnan Agricultural University, Kunming 650201, China;

2. National Research and Extension Center of New Pepper Variety Technology, Hunan

Academy of Agricultural Science, Changsha 410125, China; 3. College of Modern Agricultural

Engineering, Kunming University of Science and Technology, Kunming 650224, China)

Abstract: *Capsicum annuum* L. cytoplasmic male-sterile lines (CMS) 9704A and 8214A and their maintainer lines (M) 9704B and 8214B were used as the experimental materials. An investigation was made on tendency of mean total respiration rates (Vt), cyanide-resistant respiration rates (Valt) and ratio of Valt to Vt (Valt/Vt) of the leaves at the stage of full bloom and the flower buds at different flower stages from 9704A, 8214A, 9704B and 8214B. The results showed that Vt, Valt and Valt/Vt in the CMS were slightly decreased, whereas Vt in the M reflected an ambiguous tendency, Valt and Valt/Vt in the M reflected an increasing tendency during flower buds developing. Vt, Valt and Valt/Vt in the leaves of CMS were higher than those of M in the leaves in the stage of full bloom.

Key words: mean total respiration rates (Vt); cyanide-resistant respiration rates (Valt); ratio of Valt to Vt (Valt/Vt); cytoplasmic male-sterility; *Capsicum annuum* L.

收稿日期: 2008-02-25 修回日期: 2008-04-25

* 基金项目: 国家“863”计划项目 (2001AA241121-10); 云南省自然科学基金 (2005C0023Q); 云南省教育厅科学研究基金 (07Y11682; 04Y559B); 湖南省蔬菜工程与技术重点实验室资助项目。

作者简介: 邓明华 (1974-), 男, 湖南临湘人, 硕士, 讲师, 主要从事辣椒遗传育种与栽培工作。

E-mail: dengminghua1974@yahoo.com.cn

** 通讯作者 Corresponding author: 邹学校, 男, 博士, 研究员。 E-mail: zuo_xuexiao@163.com

高等植物呼吸代谢有多条途径已经在水稻等中得到证实, 它主要包括底物降解和电子传递的多条线路, 它们在植物体内可以同时存在和运转, 而且内外因素可以造成线路间在程度(比例)和方向上的改变或差异^[1]。抗氰呼吸与雄性不育的关系一直以来是植物雄性不育生理生化研究的热点之一^[2]。植物雄性不育系中呼吸代谢异常前人已经开展过相关研究。KUIPER^[3]曾报道车前草(*Plantagolancelate* L.) 幼苗雄性不育系比保持系具有较低水平抗氰呼吸。随后夏涛等^[4]研究表明: C-CMS和S-CMS系花药存在抗氰呼吸途径消失等现象; Musgrave等^[5]研究发现玉米CMS系缺乏抗氰途径, 而保持系抗氰呼吸途径正常存在; 此外王秀珍等^[6]、陈良碧等^[7]、陈贤丰等^[8,9]、CONNETT等^[10]分别在水稻(*Oryza sativa* L.)、高粱(*Sorghum bicolor*)、矮牵牛(*Petunia hybrida*)等不同的作物中发现不育系呼吸代谢存在明显异常。这些都说明抗氰呼吸与雄性不育有关。目前有关辣椒(*Capsicum annuum* L.) 核质互作雄性不育系(cytoplasmic male-sterile lines, CMS)与其保持系(maintainer lines, M)的呼吸代谢的研究尚未见报道。辣椒核质互作雄性不育系9704A是以21号牛角椒田间自然突变雄性不育株为不育源, 采用连续回交经过代回交和选择, 育成的性状稳定的不育系9704A和相应的保持系9704B。9704A和9704B表现为中熟, 第一朵花12节左右, 具有较强的营养生长势, 株高中等, 分枝多, 叶色深绿, 抗性较强, 较抗病毒病、炭疽病、耐疫病、疮痂病, 果实辣味较强。不育系8214A是以9704A为不育源, 以优良自交系8214为轮回亲本, 经过5代连续回交选育而成, 为微辣性不育系。不育系9704A和8214A不育度均达到100%, 不育性十分稳定, 笔者对环境不敏感, 已经在辣椒杂交制种中得到广泛应用^[11]。笔者对湖南省蔬菜研究所育成的辣椒核质互作雄性不育系9704A, 8214A和相应的保持系9704B, 8214B进行抗氰呼吸研究, 以其了解交替途径的存在与否及其程度与雄性不育之间是否具有某种联系, 旨在为辣椒核质互作雄性不育机制的认识及其抗氰呼吸生理意义的理解提供新的思路。本文报道有关研究的初步结果。

1 材料与方 法

1.1 材 料

供试材料为辣椒核质互作雄性不育系9704A,

8214A和相应的保持系9704B, 8214B。均由湖南省蔬菜研究所提供。

1.2 方 法

4份试验材料于12月份播种, 第2年3月上旬排苗, 4月初栽植于大田, 每份材料栽植200株左右。于盛花期, 在每天7:00~10:00分别取4份材料顶部刚完全展开的幼嫩叶片和小花蕾(花蕾直径小于2.0 mm, 造孢细胞期, 尚未败育)、中花蕾(萼瓣等长, 单核小孢子期, 败育开始)、大花蕾(露冠长度等于萼片长度, 成熟花粉粒期, 败育完成)。试验设3次重复, 每次重复用鲜样1.0 g左右, 测定结果取3次重复的平均值。

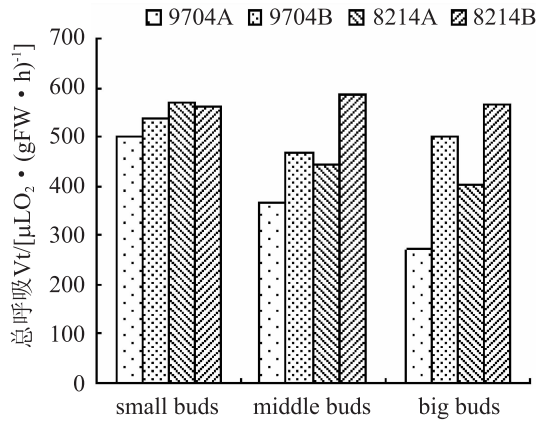
采用微量定积测压计测定呼吸作用^[12]。称取试验材料约0.2 g, 叶片用打孔器打成直径4 mm左右的圆叶片。将材料放入微量定积测压计反应瓶中, 在35℃的温度条件下测反应20 min后反应瓶中气体体积的变化值, 根据反应常数计算样品的呼吸速率(V_t)。抗氰呼吸速率(V_{alt})则用2 mmol/L的氰化钾(KCN)处理20 min后的样品呼吸速率减去1 mmol/L的水杨基氧肟酸(SHAM)处理10 min后的样品呼吸速率表示。样品用KCN和SHAM处理后的呼吸速率测定同样品总呼吸速率。

2 结果与分析

2.1 不育系与保持系总呼吸速率速率的差异

研究了辣椒CMS系与保持系盛花期的不同的发育时期的花蕾和顶部全展叶片的总呼吸速率(图1, 表1)。在CMS系9704A中, 小花蕾的总呼吸速率最强烈为 $500 \mu\text{L O}_2/(\text{gFW} \cdot \text{h})$, 随着花蕾的发育, 总呼吸速率不断降低; 中花蕾时, 总呼吸速率为 $370 \mu\text{L O}_2/(\text{gFW} \cdot \text{h})$; 而大花蕾时, 总呼吸速率为 $270 \mu\text{L O}_2/(\text{gFW} \cdot \text{h})$, 仅为小花蕾的54%。而在其保持系9704B中, 虽然小花蕾阶段总呼吸速率仍是最强烈, 但随着花蕾的发育, 呼吸速率降低极少, 仍相当于小花蕾时的88%和93%, 这可能与花粉发育过程中需要大量能量有关。在叶片中, 表现为CMS系9704A中的总呼吸速率低于保持系9704B, 仅为保持系的67%。在CMS系8214A和保持系8214B中也表现为相似的变化趋势: 在CMS系8214A中, 随着花蕾的发育, 总呼吸速率强度不断降低, 而在保持系8214B中则变化很少; CMS系8214A叶片总呼吸

代谢速率为 $604 \mu\text{L O}_2/(\text{gFW} \cdot \text{h})$ ，明显低于保持系 8214B 的 $687 \mu\text{L O}_2/(\text{gFW} \cdot \text{h})$ 。



注：9704A、8214A：核质互作雄性不育系；9704B，8214B：保持系；同图2。
Note: 9704A, 8214A: cytoplasmic male-sterile lines (CMS); 9704B, 8214B: maintainer lines (M); the same as Tab.2.

图 1 辣椒CMS系及其M系不同花期花蕾总呼吸速率
Fig. 1 Mean total respiration rates (Vt) of the flower buds at different developmental stages of CMS and M

2.2 不育系与保持系抗氰呼吸速率的差异

通过对辣椒 CMS 系与保持系盛花期的不同的发育时期的花蕾和顶部全展叶片的抗氰呼吸速率的测定，发现抗氰呼吸速率在辣椒 CMS 系与保持系之间存在明显差异（图 2，表 1）。在辣椒 CMS 系 9704A 中，随着花蕾的发育，抗氰呼吸速率呈现显著下降的趋势：在小花蕾时期，抗氰呼吸速率为 $100 \mu\text{L O}_2/(\text{gFW} \cdot \text{h})$ ，中花蕾和大花蕾时期的抗氰呼吸速率仅为小花蕾时期的 67% 和 33%。而在保持系 9704B 中，则表现为不断上升：小花蕾时期的抗氰呼吸速率为 $110 \mu\text{L O}_2/(\text{gFW} \cdot \text{h})$ ，

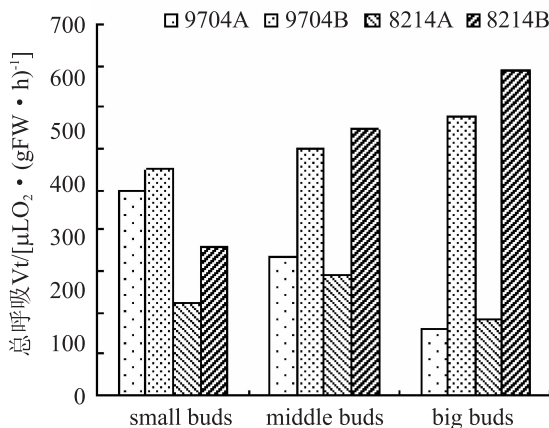


图 2 辣椒CMS系及其M系不同花期花蕾抗氰呼吸速率
Fig. 2 Alternative respiration rates (Valt) of the flower buds at different developmental stages of CMS and M

中花蕾时为 $120 \mu\text{L O}_2/(\text{gFW} \cdot \text{h})$ ，大花蕾时为 $135 \mu\text{L O}_2/(\text{gFW} \cdot \text{h})$ 。在 CMS 系 8214A 和保持系 8214B 花蕾的不同发育阶段，抗氰呼吸速率的变化趋势与其在 CMS 系 9704A 和保持系 9704B 中的变化趋势基本一致。

表 1 辣椒胞质雄性不育系及其保持系不同花期花蕾抗氰呼吸占总呼吸比率

Tab. 1 Ratio of Valt to Vt (Valt/Vt) of the flower buds at different developmental stages of CMS and M %

品种 varieties	小花蕾 small buds	中花蕾 middle buds	大花蕾 big buds
9704 A	20.00	18.11	12.22
9704 B	20.37	25.53	27.00
8214 A	7.89	13.03	9.11
8214 B	12.81	22.01	27.87

在叶片中，抗氰呼吸速率是保持系 9704B，8214B 明显高于它们的 CMS 系 9704A，8214A，分别为 CMS 系 9704A，8214A 抗氰呼吸速率的 218% 和 227%。

2.3 不育系与保持系抗氰呼吸速率所占总呼吸速率的比例的差异

对辣椒 CMS 和保持系盛花期的不同的发育时期的花蕾和顶部全展叶片抗氰呼吸速率所占总呼吸速率的比例进行了研究（表 2）。在 CMS 系 9704A 中，随着花蕾的不断发育抗氰呼吸速率所占总呼吸速率的比例在不断降低，而且一直低于保持系 9704B，在小花蕾、中花蕾、大花蕾时期分别相当于保持系 9704B 的 98%，71%，45%。同时保持系 9704B 抗氰呼吸所占总呼吸速率的比例却在不断上升。在 CMS 系 8214A 和 8214B 中的变化趋势也基本相似。在叶片中，CMS 系 9704A，8214A 的抗氰呼吸速率所占总呼吸速率的比例明显低于其保持系 9704B，8214B。

表 2 辣椒胞质雄性不育系及其保持系盛花期全展叶总呼吸、抗氰呼吸和抗氰呼吸占总呼吸比率

Tab. 2 Vt, Valt and Valt/Vt of the leaves at the stage of full bloom of CMS and M $\mu\text{L O}_2/(\text{gFW} \cdot \text{h})$

品种 varieties	Vt	Valt	(Valt/Vt) %
9704A	470	77	16.38
9704B	700	168	24.00
8214A	604	120	19.87
8214B	687	272	39.59

3 讨论

呼吸作用是重要的生命现象, 呼吸速率既是表现生命体呼吸作用强弱的指标, 也是生命体能量代谢程度的宏观表现。在高等植物体内同时存在多条途径的呼吸代谢现已经得到证实^[1]。内外因素(基因型、环境)可以造成不同路线间在程度(比例)和方向上的改变和差异^[2]。大量的研究表明: 不育系花药的呼吸速率低于保持系^[13], 这说明不育系花药中与呼吸作用有关的途径出现了缺陷; 在小孢子发生和正常发育过程中需要有充足的能量, 总呼吸速率的降低, 能量供应不足必然影响到小孢子的正常发育, 导致雄性不育。笔者此前的研究表明, 不育系花蕾中可溶性糖、游离蛋白质和游离脯氨酸的含量随着花蕾的发育呈上升的趋势, 而不育系花蕾中这些物质的含量则随着花蕾的发育下降^[14]。

高等植物导致氧还原有两条电子传递途径: 对氰化物敏感的细胞色素氧化酶途径和对氰化物不敏感的交替氧化酶途径。其中抗氰呼吸途径仅一个末端氧化酶(alternative oxidase, AOX), 它不合成 ATP, 只起平衡碳代谢和传递电子的作用, 可以防止电子传递链过度还原产生活性氧^[1]。不育系抗氰呼吸速率减弱或者缺乏就有可能导致活性氧形成增多, 从而影响小孢子的正常发育。有研究发现不育系抗氰呼吸速率占总呼吸的比率远低于保持系^[4], 说明不育系中有些呼吸途径被阻遏; 而且研究还发现不育系缺乏抗氰呼吸途径而保持系花蕾中的抗氰呼吸途径正常存在^[8]。因此不育系呼吸作用的改变必然导致花蕾物质代谢和能量代谢的紊乱, 而最终对小孢子的发育产生严重的不利影响。

通过对本次试验结果的分析, 发现 CMS 系在小花蕾时期总呼吸速率、抗氰呼吸速率、抗氰呼吸速率所占总呼吸速率的比例均为最高, 随着花蕾的发育而不断下降, 而在其相应的保持系中则表现为变化不明显或呈上升趋势, 说明随着花蕾的发育, CMS 系花蕾中有些呼吸途径被阻遏, 能量供应越来越少, 因此不育系呼吸作用的改变导致花蕾物质代谢和能量代谢的紊乱, 而最终对小孢子的发育产生严重的不利影响。这与前人对玉米、水稻等植物雄性不育性研究的结果基本一致^[4,5,8,10,13]。

[参考文献]

- [1] 潘瑞炽. 植物生理学(第五版) [M]. 北京: 高等教育出版社, 2004.
- [2] 刘忠松, 官春云, 陈社员. 植物雄性不育机理的研究及应用 [M]. 北京: 中国农业出版社, 2004.
- [3] KUIPER D. Genetic Differentiation in *Plantago Major*: Growth and Root Respiration and their Role in Phenotypic Adaptation [J]. *Physiologia Plantarum*, 1983, 57 (2): 222-230.
- [4] 夏涛, 刘纪麟. 玉米胞质雄性不育与组织抗氰呼吸关系的研究 [J]. *中国农业科学*, 1988, 21 (5): 39-43.
- [5] MUSGRAVE M E, ANTANOVIC J, SIEDOW J N. Is Male-sterility in Plants Relate to Lack of Cyanide-resistant Respiration in Tissues? [J]. *Plant Science*, 1986, 44: 7-11.
- [6] 王秀珍, 腾晓月, 阎隆飞. 玉米及高粱花药中 ATP 含量与细胞质雄性不育的关系 [J]. *作物学报*, 1986, 12 (3): 177-181.
- [7] 陈良碧, 周广洽, 黄玉祥. 温光条件下对安农 S-1、衡农 S-1 的育性及生理的影响 [J]. *植物学报*, 1994, 36 (增刊): 119-123.
- [8] 陈贤丰, 梁承邺. 水稻细胞质雄性不育性与组织抗氰呼吸关系的研究 [J]. *中国水稻科学*, 1990, 4 (4): 92-94.
- [9] 陈贤丰, 梁承邺. HPGMR 不育花药能量代谢, H₂O₂ 的积累与雄性不育的关系 [J]. *植物生理学通讯*, 1991, 27 (1): 21-2.
- [10] CONNETT M B, HANSON M R. Differential Mitochondrial Electron Transport Through the Cyanidesensitive and Cyanide-insensitive Pathways in Isonuclear Lines of Cytoplasmic Male Sterile, Male Fertile, And Restored *Petunia* [J]. *Plant Physiology*, 1990, 93: 1643-1640.
- [11] 邹学校. 中国辣椒 [M]. 北京: 中国农业出版社, 2002.
- [12] 薛应龙. 植物生理学试验 [M]. 北京: 高等教育出版社, 1985.
- [13] 张明永, 梁承邺, 黄毓文, 等. 水稻胞质雄性不育系与保持系的呼吸途径比较 [J]. *植物生理学报*, 1998, 24 (1): 55-58.
- [14] 邓明华, 文锦芬, 邹学校, 等. 辣椒细胞质雄性不育系的物质代谢和过氧化物酶分析 [J]. *云南农业大学学报*, 2007, 22 (6): 791-794.